



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**JEFFERSON VITOR MELO CABRAL**

**EFEITO ALELOPÁTICO DA CIANOBACTÉRIA POTENCIALMENTE TÓXICA  
*Raphidiopsis raciborskii* SOBRE A MICROALGA VERDE *Chlorella vulgaris***

**CAMPINA GRANDE – PB  
2020**

**JEFFERSON VITOR MELO CABRAL**

**EFEITO ALELOPÁTICO DA CIANOBACTÉRIA POTENCIALMENTE TÓXICA  
*Raphidiopsis raciborskii* SOBRE A MICROALGA VERDE *Chlorella vulgaris***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento do Curso Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Área de concentração:** Ecologia e Limnologia.

**Orientador:** Prof. Dr. José Etham de Lucena Barbosa

**Coorientadora:** Dra. Vanessa Virginia Barbosa

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

C117e Cabral, Jefferson Vitor Melo.  
Efeito alelopático da cianobactéria potencialmente tóxica *Raphidiopsis raciborskii* sobre a microalga verde *Chlorella vulgaris* [manuscrito] / Jefferson Vitor Melo Cabral. - 2020.  
25 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2020.  
"Orientação : Prof. Dr. José Etham de Lucena Barbosa ,  
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."  
1. Alelopatia. 2. Fitoplâncton. 3. Cianotoxinas. I. Título  
21. ed. CDD 581.7

**JEFFERSON VITOR MELO CABRAL**

**EFEITO ALELOPÁTICO DA CIANOBACTÉRIA POTENCIALMENTE TÓXICA  
*Raphidiopsis raciborskii* SOBRE A MICROALGA VERDE *Chlorella vulgaris***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento do Curso Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Área de concentração:** Ecologia e Limnologia.

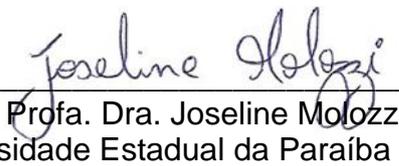
Aprovada em: 15 /12 / 2020.

**BANCA EXAMINADORA**



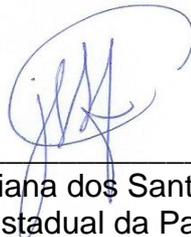
---

Prof. Dr. José Etham de Lucena Barbosa (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Profa. Dra. Joseline Molozzi  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Profa. Dra. Juliana dos Santos Severiano  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Velocidade de crescimento dos microrganismos durante o período de experimento e tempo de duplicação (Td).....	15
Resultados ANOVA fatorial mostrando os resultados entre o tipo de cultura, tempo de cultura e interação tipo de cultura com o tempo de interação sobre o biovolume, taxa de crescimento, taxa de inibição e concentrações de saxitoxina de <i>R. raciborskii</i> e <i>C. vulgaris</i> , df= graus de liberdade, ns= não significativo.....	16

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Delineamento experimental.....	10
Figura 2 –	Biovolume de <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Raphidiopsis raciborskii</i> em cultura pura e cocultura. O símbolo “*” foi utilizado para representar a diferença entre o biovolume de <i>R. raciborskii</i> na cultura pura e a conjunta, enquanto o “•” foi utilizado para representar a diferença entre o biovolume de <i>C. vulgaris</i> na cultura pura e a conjunta. ....	12
Figura 3 –	Contribuição relativa (%) de indivíduos de <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Raphidiopsis raciborskii</i> durante os dias de experimento.....	13
Figura 4 –	Gráfico de taxa de crescimento ( $\text{dia}^{-1}$ ) de <i>C. vulgaris</i> e <i>R. raciborskii</i> em cultura pura e cultura conjunta. O símbolo “*” foi utilizado para representar a diferença entre a taxa de crescimento de <i>R. raciborskii</i> entre a cultura pura e a conjunta, enquanto o “•” foi utilizado <i>C. vulgaris</i> representar a diferença entre a taxa de crescimento de <i>C. vulgaris</i> entre a cultura pura e a conjunta.....	14
Figura 5 –	Gráfico representando a taxa de inibição de <i>Chlorella vulgaris</i> em cocultura com <i>Raphidiopsis raciborskii</i> e <i>Raphidiopsis raciborskii</i> em cocultura com <i>Chlorella vulgaris</i> .....	15
Figura 6 –	Gráfico de concentração de saxitoxina (STX) produzida por <i>Raphidiopsis raciborskii</i> nos tratamentos com e sem <i>Chlorella vulgaris</i> .....	17

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Cultura de <i>Raphidiopsis raciborskii</i> e <i>Chlorella vulgaris</i></b> .....	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3</b>	<b>Análise de dados</b> .....	<b>10</b>
<b>2.3.1</b>	<b><i>Taxa de crescimento</i></b> .....	<b>10</b>
<b>2.3.2</b>	<b><i>Taxa de inibição</i></b> .....	<b>10</b>
<b>2.3.3</b>	<b><i>Densidade celular</i></b> .....	<b>10</b>
<b>2.3.4</b>	<b><i>Análise de saxitoxina</i></b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.5</b>	<b><i>Análise estatística</i></b> .....	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>19</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>19</b>

**EFEITO ALELOPÁTICO DA CIANOBACTÉRIA POTENCIALMENTE TÓXICA  
*Raphidiopsis raciborskii* SOBRE A MICROALGA VERDE *Chlorella vulgaris***

**ALLELOPATHIC EFFECTS OF POTENTIALLY TOXIC CYANBACTERIA  
*Raphidiopsis raciborskii* ON GREEN MICROALGAE *Chlorella vulgaris***

Jefferson Vitor Melo Cabral\*

**RESUMO**

Os maiores problemas relacionados a eutrofização dos ambientes aquáticos é a floração de cianobactérias, pois esses microrganismos podem comprometer a qualidade da água. A *Raphidiopsis raciborskii* é uma cianobactéria que vem ganhando destaques em estudos pelo seu potencial tóxico, além do sucesso competitivo diante outras espécies fitoplanctônicas. As cianobactérias podem prejudicar as microalgas verdes, organismos fundamentais para a ecologia dos mananciais hídricos. Uma microalga que vem se destacando em estudos é a *Chlorella vulgaris* devido sua importância econômica, essa espécie é comumente encontrada em lagos e rios por todo mundo. Estudos apontam que *C. vulgaris* é sensível aos aleloquímicos produzidos por cianobactérias. Diante disso, o objetivo desse estudo é verificar os efeitos alelopáticos de *R. raciborskii* e a saxitoxina sobre o crescimento de *C. vulgaris*. O experimento teve a duração de 8 dias, retirando amostras para análises nos dias 0, 2, 4, 6, 8. Foram realizadas análises de taxa de crescimento, taxa de inibição e toxinas. Para a análise estatística foi utilizada a análise de variância para verificar diferenças. A partir dos dados obtidos podemos observar que o biovolume de *C. vulgaris* em exposição a *R. raciborskii* apresentou diferença significativa ( $F_{1,15}=13.54$ ;  $p<0,01$ ) a partir do quarto dia de experimento, com maior biovolume de células em cocultura com a cianobactéria nos dias 4 e 8. A alga verde também apresentou a maior taxa de crescimento em cocultura com a *R. raciborskii*. Havendo a inibição de *C. vulgaris* pela cianobactéria apenas no segundo e sexto dia, no quarto e oitavo dia houve um estímulo no crescimento da microalga verde. Já *R. raciborskii* foi inibida a partir do segundo dia de experimento e no sexto dia apresentou a maior inibição. A maior concentração de saxitoxina ocorreu no oitavo dia no tratamento de cultura mista, com  $7,67 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os resultados encontrados foram semelhantes a outros estudos, sugerindo a resistência da alga verde para toxinas produzidas por cianobactérias. A partir desses dados podemos concluir que a cianobactéria potencialmente tóxica *Raphidiopsis raciborskii* e a saxitoxina produzida não teve influência negativa no crescimento da microalga verde *Chlorella vulgaris*.

**Palavras-chave:** Alelopatia. Fitoplâncton. Cianotoxinas.

**ABSTRACT**

The biggest problems related to eutrophication of aquatic environments is the bloom of cyanobacteria, as these microorganisms can compromise water quality. *Raphidiopsis raciborskii* is a cyanobacterium that has been gaining prominence in

---

\* Aluno de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.  
E-mail: jvitormeloc@gmail.com

studies for its toxic potential, in addition to its competitive success with other phytoplankton species. Cyanobacteria can harm green microalgae, organisms essential to the ecology of water sources. A microalgae that has been highlighted in studies is *Chlorella vulgaris* due to its economic importance, this species is commonly found in lakes and rivers all over the world. Studies show that *C. vulgaris* is sensitive to allelochemicals produced by cyanobacteria. Therefore, the aim of this study is to verify the allelopathic effects of *R. raciborskii* and saxitoxin on the growth of *C. vulgaris*. The experiment lasted 8 days, taking samples for analysis on days 0, 2, 4, 6, 8. Analysis of growth rate, inhibition rate and toxins was performed. For statistical analysis, analysis of variance was used to verify differences. From the data obtained, we can observe that the biovolume of *C. vulgaris* exposed to *R. raciborskii* showed a significant difference ( $F_1 = 13.54$ ;  $p < 0.01$ ) from the fourth day of the experiment, with a greater biovolume of cells in co-culture with cyanobacteria on days 4 and 8. The green algae also showed the highest growth rate in coculture with *R. raciborskii*. There was inhibition of *C. vulgaris* by cyanobacteria only on the second and sixth day, on the fourth and eighth day there was a stimulus in the growth of green microalgae. *R. raciborskii* was inhibited from the second day of the experiment and on the sixth day it presented the greatest inhibition. The highest concentration of saxitoxin occurred on the eighth day in the mixed culture treatment, with  $7.67 \mu\text{g L}^{-1}$ . The results found were similar to other studies, suggesting the resistance of green algae to toxins produced by cyanobacteria. From these data we can conclude that the potentially toxic cyanobacteria *Raphidiopsis raciborskii* and the produced saxitoxin had no negative influence on the growth of the green microalgae *Chlorella vulgaris*.

**Keywords:** Allelopathy. Phytoplankton. Cyanotoxins.

## 1 INTRODUÇÃO

Os reservatórios artificiais representam grande importância nas regiões tropicais, principalmente no semiárido, por ser uma fonte de água fixa, tendo em vista que muitas dessas regiões sofrem com a seca (DALU; WASSERMAN, 2018). No entanto, esses reservatórios são constantemente impactados pelo aporte de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, advindo de fontes externas, intensificando a eutrofização desses ecossistemas (DALU; WASSERMAN, 2018).

Os maiores problemas relacionados a eutrofização dos ambientes aquáticos é a proliferação, ou floração, de cianobactérias potencialmente tóxicas (PAERL; HUISMAN, 2009; O'NEIL et al., 2012; DALU; WASSERMAN, 2018). Esses microrganismos vêm ganhando destaque na comunidade científica pois comprometem a qualidade da água do reservatório e produzem compostos que conferem odor e sabor para a água (SILVONEN; JONES, 1999; HUANG; ZIMBA, 2019). Ademais, muitas espécies possuem o potencial de sintetizar metabólitos secundários que podem vir a ser tóxicos para a população e animais que fazem o uso da fonte de água (FUNARI et al., 2017; FERRÃO-FILHO; DA-SILVA, 2020). As toxinas produzidas pelas cianobactérias (cianotoxinas) são classificadas de acordo com o órgão de ação nos animais, podem ser: hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas (FUNARI; MANGANELLI; SINISI, 2012; O'NEIL et al., 2012). Jochimsen et al. (1998) relatou um caso de acidente com cianotoxinas, em um centro de dialise em Caruaru, Pernambuco em 1996, o qual veio a óbito cerca de 50 pessoas, a toxina microcistina

foi encontrada no tecido hepático de 17 pacientes que morreram. Os fatores que levam a regulação da síntese e liberação dessas toxinas ainda são desconhecidos (WALLS et al., 2018).

Além do risco a saúde, as florações de cianobactéria comprometem a biodiversidade do ecossistema aquático, visto que possuem uma gama de adaptações que permitem vantagens competitivas diante de outros competidores do fitoplâncton (HUANG; ZIMBA, 2019). Por exemplo, muitas espécies de cianobactérias são resistentes a baixa luminosidade; altas temperaturas (HAVENS et al., 2017; DALU WASSERMAN, 2018); produzem células especializadas no estoque de nitrogênio, os heterócitos, se beneficiando quando esse nutriente está em baixa concentração no ambiente; apresentam acinetos, que são células de resistências; e também são capazes de regular sua posição na coluna d'água por vesículas de gás. As toxinas também desempenham papel contra o pastoreio do zooplâncton sob as cianobactérias, fazendo-os preferir se alimentar de outras algas a cianobactérias (PAERL; PAUL, 2012).

Uma espécie que vem ganhando destaque em trabalhos científicos é a cianobactéria filamentosa, diazotrófica *Raphidiopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya and Subba Raju (antiga *Cylindrospermopsis raciborskii*), pertencente a ordem Nostocales (BURFORD et al., 2016), encontrada em todos os continentes do mundo (O'NEIL et al., 2012). Esta cianobactéria possui adaptações ecofisiológicas citadas anteriormente que beneficiam suas florações, como a formação de acinetos, tolerando também baixas disponibilidades de nutrientes (BURFORD et al., 2016). *R. raciborskii* possui o potencial de produzir a neurotoxina saxitoxina (STX) e cylindrospermopsina (CYN), contudo, as cepas tóxicas encontradas no Brasil produzem apenas STX (ANTUNES; LEÃO; VASCONCELOS, 2015; TESTAI et al., 2016). Essas toxinas podem ser bioacumuladas no organismo predador e ser transferida para o próximo nível trófico podendo chegar na dieta de humanos através de peixes e crustáceos (HUANG; ZIMBA, 2019; TESTAI et al., 2016).

Cianobactérias são relatadas por exercerem um potencial efeito alelopático e letal em diversos organismos fitoplanctônicos ocasionando supressão da atividade esterase, redução do fotossistema e da atividade metabólica e estresse oxidativo (BARTOVA et al., 2011; ANTUNES; LEÃO; VASCONCELOS, 2015). Essas vantagens das cianobactérias em relação aos outros organismos fitoplanctônicos podem prejudicar as microalgas verdes, organismos fundamentais para a ecologia dos mananciais hídricos, pois as microalgas são fontes primordiais na alimentação de zooplâncton e peixes (SAFI et al., 2014). Estudos mostram que a cianobactéria em fase exponencial e estacionária de crescimento pode inibir as taxas de crescimento de algumas espécies de microalgas verdes (*Scenedesmus quadricauda* e *Chlorella pyrenoidosa*), enquanto que na fase de declínio foi verificado o crescimento dessas espécies de microalgas verdes (WANG et al., 2017). Em relação a *R. raciborskii*, exsudatos dessa cepa também foram registradas como potencial inibidor do crescimento da microalga verde *S. quadricauda* sendo verificado taxas de inibição de até 47% (KOVÁCS et al., 2018). Por outro lado, Leão, Vasconcelos e Vasconcelos (2009) encontrou pouco ou nenhum efeito alelopático envolvendo cepas tóxicas de *R. raciborskii* sobre a microalga verde *Ankistrodesmus falcatus*, exceto quando ele utilizou cepas não-tóxicas.

O gênero de microalga verde *Chlorella* são encontradas em lagos, rios e águas marinhas, comum no mundo todo (LI et al., 2016), vem se destacando em estudos científicos devido a sua importância econômica, sendo indicada como potencial matéria-prima para a produção de biocombustível (FENG; LI; ZHANG, 2011; SAFI et

al., 2014). Muitos estudos enfatizam a capacidade de *Chlorella vulgaris* de absorver e remover metais, e nutrientes responsáveis para o crescimento de outros organismos do fitoplâncton (ZNAD et al., 2018), como as cianobactérias, também podem ser utilizadas para o tratamento biológico de águas residuais (LIM; CHU; PHANG, 2010).

Existe uma divergência nas pesquisas em relação a resistência de *C. vulgaris* exposto a cianobactérias. Alguns estudos mostraram que *C. vulgaris* é sensível aos aleloquímicos produzidos por cianobactérias, ocorrendo a inibição do crescimento e do fotossistema (ZAC; MUSIEWICZ; KOSAKOWSKA, 2012; MA et al., 2015). Em um estudo desenvolvido por Bártová et al. (2011) verificaram inibição das taxas de crescimentos e indução de estresse oxidativo por cepas tóxicas e não-tóxicas de *Microcystis aeruginosa* sobre *Chlorella vulgaris*. Por outro lado, outras pesquisas mostraram a resistência desses organismos (LEÃO; VASCONCELOS; VASCONCELOS, 2009; ZAK; KOSAKOWSKA, 2015), porém não há estudos que mostrem os efeitos de *R. raciborskii* sobre *C. vulgaris*.

Diante disso, estudos que foquem na interação de cianobactérias com outros membros do fitoplâncton são de extrema importância, pois pode-se prever a resposta de outras espécies de algas na presença de determinadas espécies de cianobactérias e suas toxinas. Tendo em vista que é difícil demonstrar as interações alelopáticas em estudos de campo (LEGRAND et al., 2003) estudos experimentais mostram-se de fundamental importância para avaliar estes processos. Objetivou-se nesse estudo verificar os efeitos alelopáticos da cianobactéria potencialmente tóxica *R. raciborskii* e sua toxina sobre o crescimento da microalga verde *Chlorella vulgaris*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Cultura de *Raphidiopsis raciborskii* e *Chlorella vulgaris*

A cepa da cianobactéria *R. raciborskii* ITEP1 foi disponibilizada pelo acervo brasileiro no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). A microalga verde *Chlorella vulgaris* foi fornecida pelo Laboratório de Biotecnologia Alimentar da Universidade Federal de Santa Catarina. A cepa utilizada de *R. raciborskii* é produtora de saxitoxina (STX).

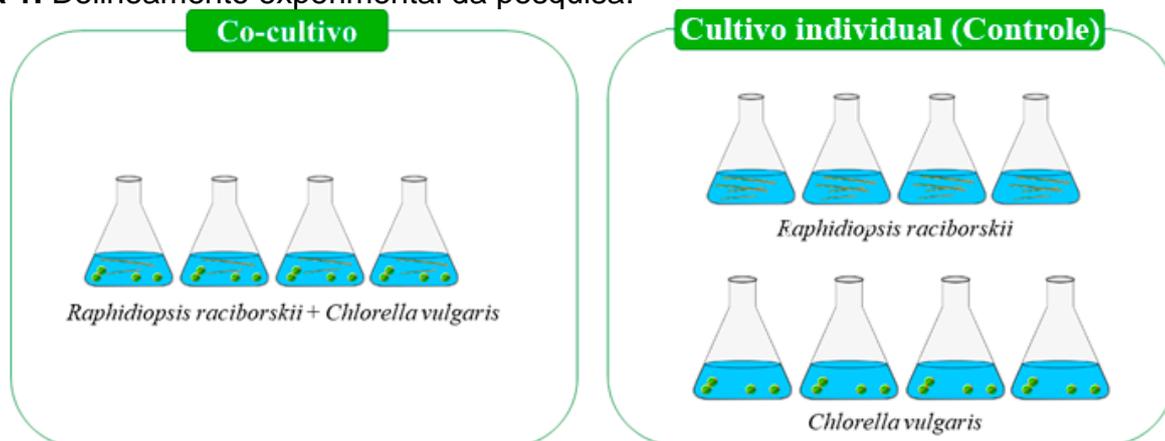
Para o cultivo das espécies as cepas foram mantidas em frascos Erlenmeyer de 250 ml em meio de cultura ASM-1, com o pH ajustado para 7,8, tampados com algodão e gaze (GORHAM et al., 1964). A temperatura do ambiente foi estabelecida para permanecer de 23-24°C, com luz de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com lâmpadas fluorescentes e fotoperíodo de 12:12. As culturas foram replicadas mensalmente na proporção de 1:10 no ASM-1, previamente autoclavado à 121°C, por 20 minutos.

### 2.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em Erlenmeyer de 250 ml contendo 200 ml do meio de cultura ASM-1, pH 7,8. O experimento foi realizado com intuito de testar a inibição de *R. raciborskii* sobre o crescimento de *C. vulgaris* (figura 1). O experimento foi mantido em condições de temperatura (24°C), taxa luminosa (40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e fotoperíodo 12:12 controlados na incubadora DBO.

No total foram utilizados 12 Erlenmeyers. O experimento teve a duração de 8 dias, sendo desmontados um conjunto de Erlenmeyers e retiradas amostras para análises nos dias 0, 2, 4, 6 e 8 para a análise da taxa de crescimento de *R. raciborskii* e *C. vulgaris* (WETZEL; LIKENS, 2001) e saxitoxinas.

**Figura 1.** Delineamento experimental da pesquisa.



Fonte: Própria, 2020

## 2.3 Análise de dados

### 2.3.1 Taxa de crescimento

As taxas de crescimento ou velocidades de crescimento ( $\mu$  dia<sup>-1</sup>) e o tempo de duplicação de *R. raciborskii* e *C. vulgaris* foram calculadas por meio das equações propostas por Wood et al. (2005):

$$\mu(d^{-1}) = (\ln(Nt) - \ln(Nt_0)) / t - t_0 \qquad Td = \ln. \mu^{-1}$$

Onde:

$\mu(d^{-1})$  = velocidade específica de crescimento;  
 $N_{t_0}$  = número inicial de células por mL no tempo inicial  $t_0$ ;  
 $N_t$  = é o número final de células por mL no tempo  $t$ .  
 $Td$  = tempo de duplicação, calculado a partir do  $\mu$

### 2.3.2 Taxa de inibição

A taxa de inibição foi calculada a partir da equação seguinte:

$$TI = ((Nm - Nc)/Nc).100$$

Onde:

$TI$  = taxa de inibição;  
 $Nm$  = concentração celular (em células mL<sup>-1</sup>) no recipiente teste;  
 $Nc$  = concentração celular (em células mL<sup>-1</sup>) no recipiente controle.

### 2.3.3 Densidade celular

Foi realizada a contagem de células de *R. raciborskii* e *C. vulgaris* através do microscópio Olympus BX51 utilizando as câmaras de contagem Neubauer. As medidas para o volume celular foram realizadas através do Software Zen. Com o resultado desses dados foi calculado a biomassa da espécie através do biovolume (HILLEBRAND et al.,1999). A curva de crescimento da cianobactéria foi traçada com

os dados de densidade e volume celular, a partir do biovolume. A porcentagem de contribuição relativa (%) das cepas foi calculada a partir do biovolume total das espécies, a fim de estimar a porcentagem de contribuição de cada espécie durante a interação ao longo dos dias do experimento.

#### 2.3.4 Análise de saxitoxina

As análises de saxitoxina total foi determinada pelo método Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), utilizando kits em placas Abraxis, Inc (Warminster, Pa), seguindo as instruções do fabricante. Para a extração da toxina foram realizados três séries de congelamento e descongelamento das amostras em temperatura  $-40^{\circ}\text{C}$ . As análises foram realizadas com auxílio de um leitor de microplacas ASYS A-5301 (ASYS Hitech GmbH Eugendorf, Áustria).

#### 2.3.5 Análise estatística

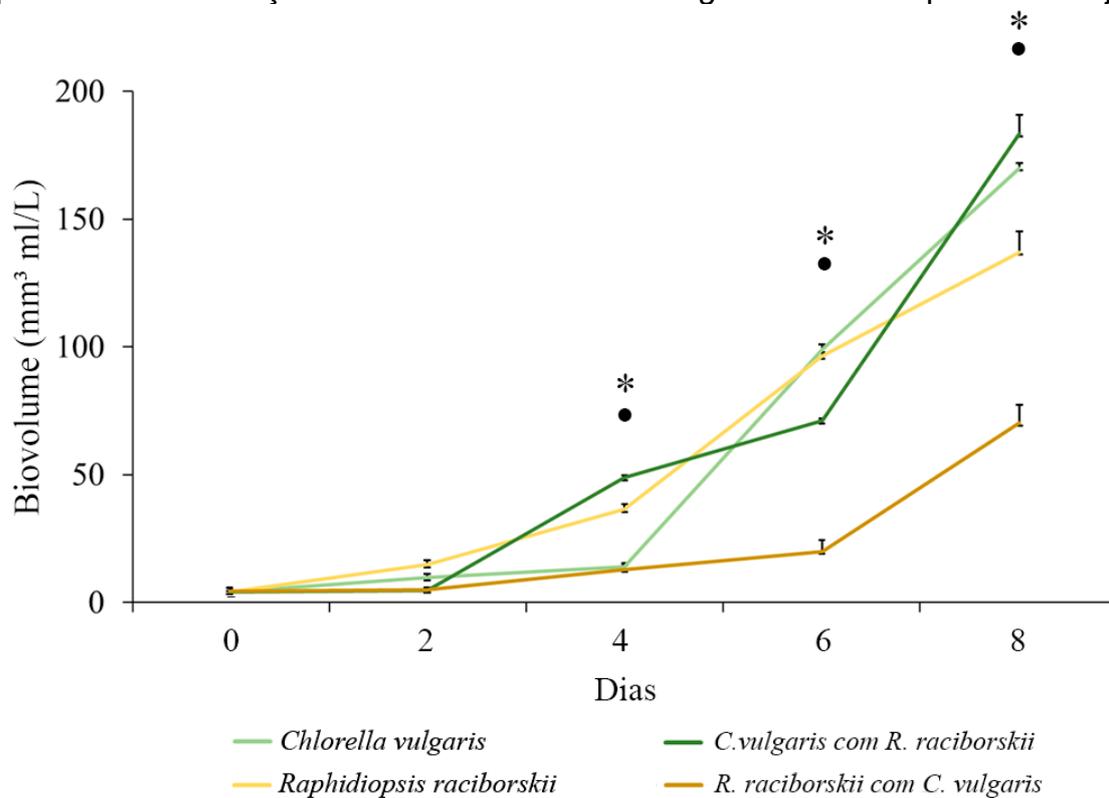
A Análise de Variância (ANOVA) e o Teste de comparações Múltiplas (TUKEY) foram utilizados para verificar a diferença no crescimento de *C. vulgaris* e *R. raciborskii* entre os tratamentos, entre os dias, e as concentrações de toxinas presente. Para a avaliação da normalidade e homocedasticidade foram utilizados os testes Kolmogorov-Smirnov e Levene. Todas as análises foram realizadas considerando o nível de significância de 5%, pelo programa R Software. Os gráficos foram construídos a partir do Microsoft Excel e Microsoft Power Point.

### 3 RESULTADOS

A partir dos resultados obtidos no experimento foi possível verificar diferenças significativas no biovolume ( $F_1=13.54$ ;  $p<0,01$ ), dias ( $F_4=5919.51$ ;  $p<0,01$ ) e interação do biovolume com os dias ( $F_4= 51.82$ ;  $p<0,01$ ). Observou-se que o biovolume da alga verde *Chlorella vulgaris* apresentou diferença a partir do quarto dia de estudo, apresentando maior biovolume em cocultura com a cianobactéria *Raphidiopsis raciborskii* no dia 4 e 8, chegando a  $181,82 \text{ mm}^3$  no último dia, em relação a cultura pura, com  $168,51 \text{ mm}^3$  no último dia. Verificou-se que o biovolume da cianobactéria também apresentou diferença significativa ( $F_1=721.11$ ;  $p<0,01$ ) com o controle a partir do quarto dia, porém o menor biovolume da cianobactéria foi observado em cultura conjunta com a alga verde, chegando a  $69,19 \text{ mm}^3$  no último dia de experimento enquanto o controle de *R. raciborskii* apresentou  $135,75 \text{ mm}^3$  no oitavo dia.

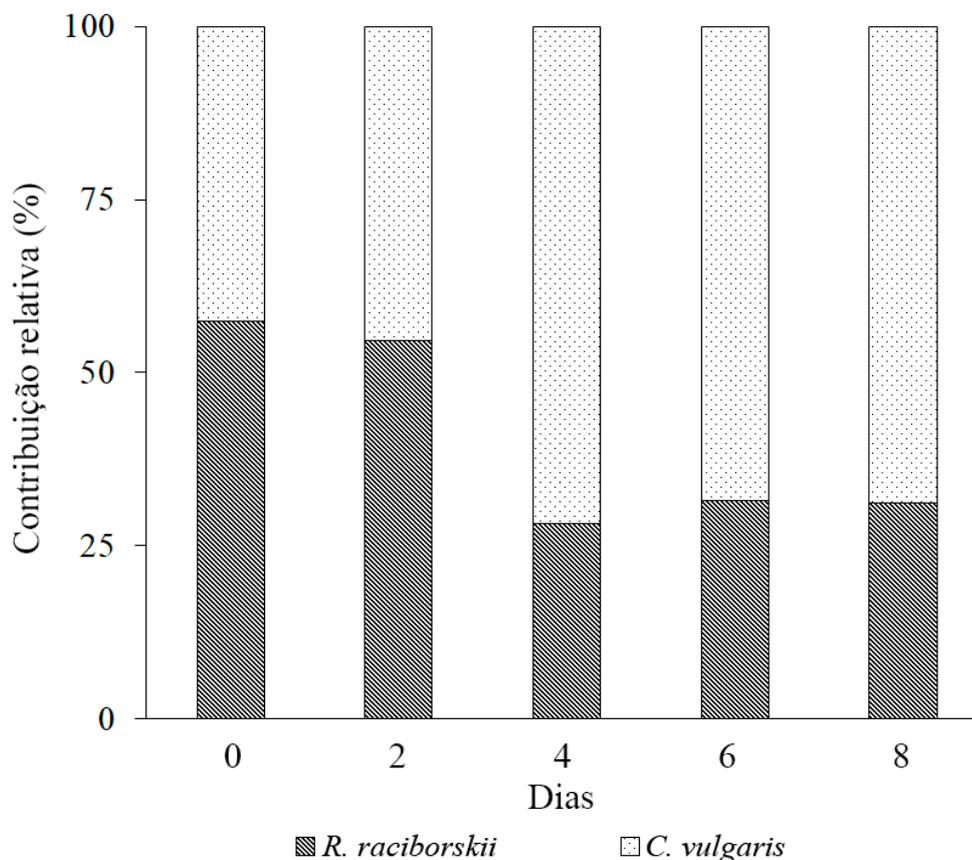
A partir do quarto dia a microalga verde, *Chlorella vulgaris*, contribuiu com a maior porcentagem celular nos tratamentos com cocultura como podemos observar no gráfico da figura 3, chegando no oitavo dia com 69% da contribuição relativa, enquanto a cianobactéria apresentou 31%.

**Figura 2.** Biovolume de *Chlorella vulgaris* e *Raphidiopsis raciborskii* em cultura pura e cocultura. O símbolo “\*” foi utilizado para representar a diferença entre o biovolume de *R. raciborskii* na cultura pura e a conjunta, enquanto o “•” foi utilizado para representar a diferença entre o biovolume de *C. vulgaris* na cultura pura e a conjunta.



Fonte: Própria, 2020

**Figura 3.** Contribuição relativa (%) de indivíduos de *Chlorella vulgaris* e *Raphidiopsis raciborskii* durante os dias de experimento.



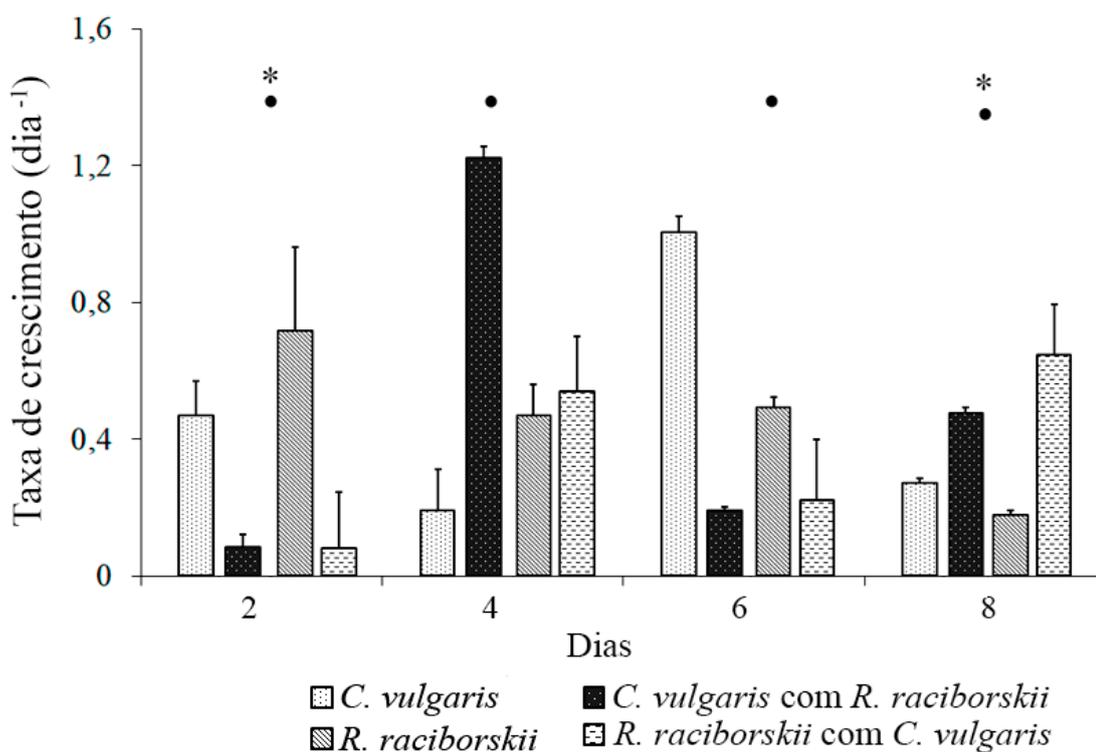
Fonte: Própria, 2020

Em relação a taxa de crescimento, foi notada diferença significativa no crescimento ( $F_1= 0,203$ ;  $p<0,01$ ), dias ( $F_3= 85.127$ ;  $p<0,01$ ) e diferença na interação de taxas de crescimento com os dias ( $F_3= 345.178$ ;  $p<0,01$ ) (figura 4). A microalga verde *C. vulgaris* apresentou diferença significativa a partir do segundo dia de experimento, apresentando o maior crescimento no controle. Entretanto, no quarto dia o tratamento com a cultura mista apresentou maior crescimento de *C. vulgaris* ( $1,22 \text{ dia}^{-1}$ ) em relação ao controle ( $0,19 \text{ dia}^{-1}$ ). No sexto dia o maior crescimento de *C. vulgaris* ocorreu no controle ( $1,00 \text{ dia}^{-1}$ ). Diferentemente da *C. vulgaris*, a cianobactéria *R. raciborskii* apresentou diferença significativa ( $F_1= 3.111$ ;  $p>0,01$ ) do controle apenas para o segundo e oitavo dia. No segundo dia o crescimento da cianobactéria foi maior na cultura controle quando comparada a cultura mista, com  $0,72 \text{ dia}^{-1}$ . Já no oitavo dia, a maior taxa de crescimento para *R. raciborskii* foi observada na cultura mista ( $0,48 \text{ dia}^{-1}$ ).

Na tabela 1 pode-se observar a velocidade de crescimento (início e fim do experimento) e o tempo de duplicação das espécies em monocultura e na cultura mista. A *C. vulgaris* apresentou maior velocidade de crescimento e menor tempo de duplicação na cultura mista,  $0,493 \pm 0,005 \text{ dia}^{-1}$  e  $2,02 \pm 0,03 \text{ dia}^{-1}$ , respectivamente. A microalga verde também apresentou a maior velocidade de crescimento e menor tempo para duplicação que a cianobactéria durante o experimento, enquanto a cianobactéria apresentou velocidade e tempo de duplicação,  $0,464 \pm 0,041 \text{ dia}^{-1}$  e  $2,17 \pm 0,17 \text{ dia}^{-1}$ , respectivamente, no tratamento controle.

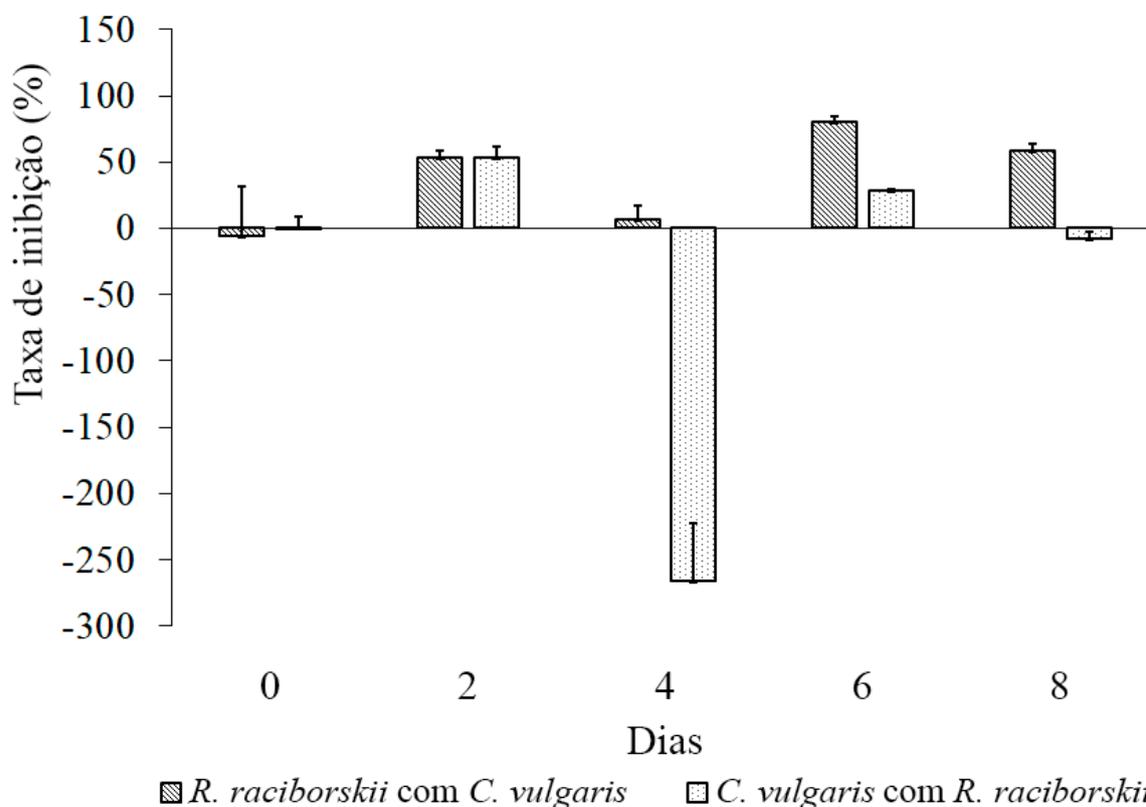
De acordo com os dados de taxa de inibição (figura 5), a *C. vulgaris* só foi inibida pela cianobactéria no segundo e sexto dia de experimento, no dia 4 houve estímulo para o crescimento (-266,38%). A *R. raciborskii* foi inibida no tratamento em conjunto com a alga verde a partir do segundo dia de experimento, sendo que o sexto dia apresentou a maior inibição (80,26%).

**Figura 4.** Gráfico de taxa de crescimento ( $\text{dia}^{-1}$ ) de *C. vulgaris* e *R. raciborskii* em cultura pura e cultura conjunta. O símbolo “\*” foi utilizado para representar a diferença entre a taxa de crescimento de *R. raciborskii* entre a cultura pura e a conjunta, enquanto o “•” foi utilizado para representar a diferença entre a taxa de crescimento de *C. vulgaris* entre a cultura pura e a conjunta.



Fonte: Própria, 2020

**Figura 5.** Gráfico representando a taxa de inibição de *Chlorella vulgaris* em cocultura com *Raphidiopsis raciborskii* e *Raphidiopsis raciborskii* em cocultura com *Chlorella vulgaris*.



Fonte: Própria, 2020

**Tabela 1** – Velocidade de crescimento dos microrganismos durante o período de experimento e tempo de duplicação (Td).

Tratamentos	<i>Chlorella vulgaris</i>		<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	
	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	Td (dia)	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	Td (dia)
<b>Monocultura</b>	0,483 ± 0,008	2,06 ± 0,04	0,464 ± 0,041	2,17 ± 0,17
<b>Cultura mista</b>	0,493 ± 0,005	2,02 ± 0,03	0,371 ± 0,043	2,73 ± 0,31

Fonte: Elaborada pelo autor, 2020

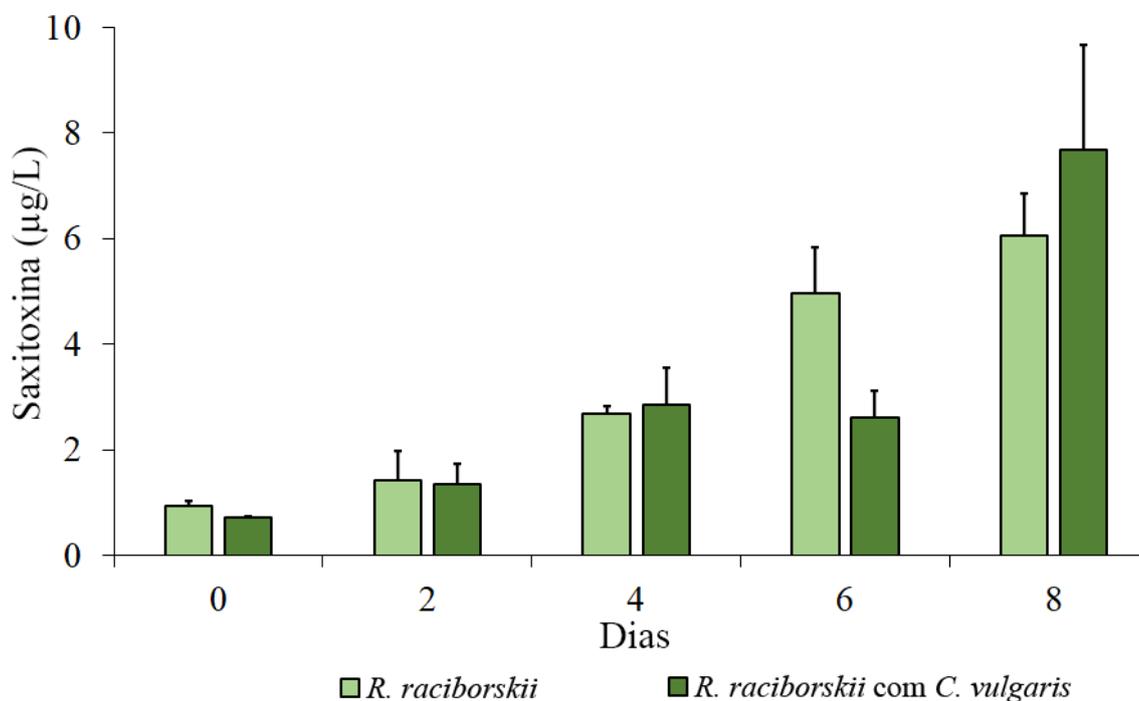
De acordo com os resultados verificou-se que não houve diferenças significativas na produção de saxitoxina ( $F_1 = 0,313$ ;  $p = 0,058$ ), porém houve diferenças entre os dias ( $F_4 = 51,347$ ;  $p < 0,01$ ). No dia 6 a maior concentração de saxitoxina foi na monocultura de *R. raciborskii* ( $p < 0,05$ ) (figura 6). Foi possível observar que no dia 8 a maior concentração de STX estava presente no tratamento de *R. raciborskii* com a presença da alga verde, com 7,67  $\mu\text{g/L}$ , em relação ao tratamento controle a concentração foi de 6,06  $\mu\text{g/L}$ .

**Tabela 2** – Resultados ANOVA fatorial mostrando os resultados entre o tipo de cultura, tempo de cultura e interação tipo de cultura com o tempo de interação sobre o biovolume, taxa de crescimento, taxa de inibição e concentrações de saxitoxina de *R. raciborskii* e *C. vulgaris*, df= graus de liberdade, ns= não significativo.

Fatores	df	Biovolume				Taxa de crescimento				Taxa de inibição				df	Saxitoxina			
		<i>C. vulgaris</i>		<i>R. raciborskii</i>		<i>C. vulgaris</i>		<i>R. raciborskii</i>		<i>C. vulgaris</i>		<i>R. raciborskii</i>			F	P		
		F	P	F	p	F	P	F	P	F	p	F	p		F	P		
Tipo de cultura	1	13,5	<0.01	721,1	<0.01	1	0,203	0,6	3,1	ns	-	-	-	-	1	0,3	Ns	
Dias	4	5919,5	<0.01	788,6	<0.01	3	85,1	<0.01	1,4	ns	4	164,3	<0,01	16,6	<0,01	4	51,3	<0,01
Tipo de cultura: Dias	4	151,8	<0.01	137,2	<0.01	3	345,1	<0.01	20,2	<0,01	-	-	-	-	4	4,5	<0,01	

**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2020

**Figura 6.** Gráfico de concentração de saxitoxina (STX) produzida por *Raphidiopsis raciborskii* nos tratamentos com e sem *Chlorella vulgaris*.



Fonte: Própria, 2020

#### 4 DISCUSSÃO

A partir dos dados obtidos pôde-se observar que a cianobactéria potencialmente produtora de toxinas, *Raphidiopsis raciborskii*, não influenciou negativamente na taxa de crescimento e no biovolume da microalga verde *Chlorella vulgaris* que apresentou a maior taxa de crescimento e biovolume no tratamento de cocultura, apresentando crescimento exponencial durante o tempo de estudo. *R. raciborskii* teve a menor taxa de crescimento e biovolume no fim do experimento no tratamento com *C. vulgaris*, resultado semelhante ao encontrado em estudo realizado por Bittencourt-Oliveira et al. (2015) com outra espécie de cianobactérias e microalga verde. As taxas de crescimento da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* quando cultivada em meios de culturas condicionados a alga verde *Scenedesmus obliquus* em concentrações diferentes foram menores que a do controle, enquanto houve um efeito positivo no crescimento da microalga verde.

Estudos observaram que em experimento de produtividade, a taxa de crescimento de *C. vulgaris* foi o dobro da taxa de crescimento de cianobactérias testadas ( $0,6 \text{ dia}^{-1}$ ) (MENDEZ et al., 2015). Da mesma forma, observamos no nosso trabalho que a microalga verde apresentou uma maior velocidade de crescimento e menor tempo de duplicação durante o experimento.

Apenas no segundo e sexto dia foi possível observar a inibição de *C. vulgaris* pela cianobactéria, no restante dos dias de experimento foi observado o efeito estimulador. Ma et al. (2015) observou que *C. vulgaris* foi inibida por cianobactéria (*M. aeruginosa*) em temperaturas acima de  $25^{\circ}\text{C}$  e estimulada em  $20^{\circ}\text{C}$ , sugerindo que a temperatura influenciava na inibição, contrariamente nosso experimento foi realizado na temperatura de  $24^{\circ}\text{C}$  e *C. vulgaris* sofreu ação de estímulo no seu crescimento.

Zak; Musiewicz e Kosakowska (2012) também observaram a inibição de *C. vulgaris* em cocultura e filtrados da cianobactéria *Anabaena viribialis* em experimento. No entanto, não foram encontrados dados sobre experimentos de cocultura ou filtrados com *Raphidiopsis raciborskii*. Além disso, *Chlorella vulgaris* parece ser resistente a outros organismos fitoplanctônicos além de cianobactérias, tais como diatomáceas e dinoflagelados (ZAK; KOSAKOWA; 2016).

A *R. raciborskii* sofreu inibição pela microalga a partir do segundo dia de experimento. Chen e Guo (2014) mostraram que outra espécie de cianobactéria (*M. aeruginosa*) foi inibida quando cultivada com outra espécie de alga verde. Além da inibição causada, houve efeito positivo no crescimento da alga verde quando cultivada com a cianobactéria.

*Chlorella vulgaris* não foi inibida por *R. raphidiopsis* mesmo sendo exposta a cianotoxinas. Estas toxinas sintetizadas por cianobactérias podem ocorrer tanto intracelular quanto extracelular (MOHAMED, 2017), sendo liberadas no meio extracelular por senescência ou lise celular e podendo entrar em contato com outros organismos presentes no ambiente (GHOBRIAL; NASSAR; KAMIL, 2015). Entretanto, os motivos pelos quais as cianobactérias produzem essas toxinas ainda não são tão conhecidos, mas trabalhos apontam que seja um mecanismo de defesa contra outros organismos fitoplânctônicos e do pastoreio pelo zooplâncton (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2015). Esses compostos químicos podem ser uma adaptação desenvolvida para prejudicar os organismos concorrentes, tendo em vista que os autótrofos aquáticos competem por recursos, tais como luminosidade, nutrientes e espaço físico (GROSS, 2003).

No presente trabalho foi possível observar que a maior concentração de STX foi produzida em cocultura, chegando no oitavo dia com 7,67 µg/L. Entretanto, como podemos observar anteriormente essa quantidade de STX não foi suficiente para promover a inibição da microalga verde no nosso estudo. Bittencourt-Oliveira et al. (2016) sugeriram que a toxicidade pode depender da concentração de STX. No entanto ressaltamos a importância de estudos de *R. raphidiopsis* exposta a outras espécies fitoplânctônicas, uma vez que a STX é uma neurotoxina potente que vem sendo relacionada a intoxicação animal aguda, podendo causar a paralisia respiratória, e mortalidade de mamíferos, além de ser bioacumulada nos organismos e transferida para níveis tróficos superiores (BURATTI et al., 2017; HUANG; ZIMBA, 2019), porém os estudos sobre essa toxina ainda são escassos em comparação com outros grupos de toxinas (CHRISTENSEN; KHAN, 2020).

Muitos estudos sugerem que as algas verdes possuem uma certa resistência para algumas toxinas produzidas por cianobactérias (BABICA et al., 2007; BÁRTOVÁ et al., 2011; BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016). Não foram encontrados estudos utilizando *Chlorella vulgaris* em interação com STX, no entanto para outras toxinas foram realizados estudos. Em estudo realizado por Campos et al. (2013), foi possível observar que a *C. vulgaris* foi resistente a exposição de cilindrospermopsina (CYN) e microcistina-LR (MC-LR) purificada em altas concentrações, aumentando o crescimento nas concentrações de 5,0, 18,4 e 179,0 µg/L. Essas concentrações são maiores as encontradas em condições ambientais, cerca de 1-10 µg/L (BABICA et al., 2007). Em contrapartida, Pinheiro et al. (2012) expuseram que CYN inibiu o crescimento de *C. vulgaris* em 8,5 e 16,7 µg/L, mas MC-LR a 37,3 µg L<sup>-1</sup> estimulou o crescimento da microalga após o sétimo dia de experimento. Com isso sugerimos que trabalhos experimentais futuros possam avaliar diferentes concentrações de STX sobre *Chlorella vulgaris* afim de verificar se a ausência de efeitos inibitórios sobre esta alga é mantida.

A alelopátia pode ser um processo pouco frequente quando a cianobactéria está com baixa densidade de células (LEÃO; VASCONCELOS; VASCONCELOS, 2009). A potência dos aleloquímicos depende da densidade celular das espécies envolvidas, tanto para a produtora dessas substâncias quanto para a espécie receptora (GRÉNELI et al., 2008). Estudos de experimentos *in vitro* são essenciais para ajudar a compreender a dinâmica dos componentes do grupo de fitoplâncton que não conseguimos analisar nos ecossistemas, pois vários fatores podem influenciar o comportamento desses organismos *in situ* (GROSS, 2003).

Este estudo trouxe dados relevantes sobre a interação da cianobactéria potencialmente tóxica *R. raciborskii* com a microalga verde *C. vulgaris in vitro*, tendo em vista que essas espécies são comumente encontradas nos ecossistemas aquáticos tropicais, ajudando a compreender a interação desses organismos nesses ambientes (LI et al., 2016). A *C. vulgaris* é um produtor primário importante para os ecossistemas aquáticos, tendo em vista que serve de alimento para espécies de zooplâncton e peixes (LÜRLING, 2003) e seria um impacto negativo relevante no ambiente caso esta microalga fosse prejudicada por *R. raciborskii*. Além da sua importância econômica como produtora de biocombustível (LI; XU; WU, 2007), na indústria alimentícia (SAFI et al., 2014) e na biorremediação de águas residuais (LIM et al., 2010; ZNAD et al., 2018).

Nesse estudo podemos observar que houve inibição da cianobactéria produtora de toxina pela microalga verde *Chlorella vulgaris*. Estudos apontam que *C. vulgaris* é produtora de substância alelopática chamada clorelina, substância essa, capaz de inibir o crescimento de outros organismos fitoplanctônicos (PRATT; FONG, 1940; FERGOLA et al., 2007; SONG et al., 2013). No entanto, não possuímos dados suficientes para afirmar que o motivo da inibição de *R. raciborskii* foi ocasionada pela presença desse composto químico, no entanto sugerimos estudos futuros que abordem estes compostos alelopáticos na inibição de cianobactérias por algas verdes, ou mais especificadamente, por *Chlorella vulgaris*.

## 5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados expostos podemos concluir que a cianobactéria potencialmente tóxica *Raphidiopsis raciborskii* e a saxitoxina produzida não tiveram influência negativa no crescimento da microalga verde *Chlorella vulgaris*. A microalga verde se mostrou resistente a toxina produzida pela cianobactéria. Entretanto, a cianobactéria se mostrou sensível a presença de *C. vulgaris*. Desse modo, se faz necessário estudo complementares desses organismos em campo para explorar suas interações com a influências ambientais.

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES, J. T.; LEÃO, P. N.; VASCONCELOS, V. M. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 473, 2015.
- BABICA, P.; HILSCHEREROVÁ, K.; BARTOVÁ, K.; BLÁHA, L.; MARSALEK, B. Effects of dissolved microcystins on growth of planktonic photoautotrophs. **Phycologia**, v. 46, n. 2, p. 137-142, 2007.

BÁRTOVÁ, K.; HILSCEROVÁ, K.; BABICA, P.; MARSALEK, B.; BLÁHA, L. Effects of microcystin and complex cyanobacterial samples on the growth and oxidative stress parameters in green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* and comparison with the model oxidative stressor—herbicide paraquat. **Environmental toxicology**, v. 26, n. 6, p. 641-648, 2011.

BURATTI, F. M.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; STEFANELLI, M.; SCARDALA, S.; TESTAI, E.; FUNARI, E. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. **Archives of toxicology**, v. 91, n. 3, p. 1049-1130, 2017.

BURFORD, M. A.; BEARDALL, J.; WILLIS, A.; ORR, T. P.; MAGALHAES, V. F.; RANGEL, L. M.; AZEVEDO, S. M. O. E.; NEILAN, B. A. Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Harmful Algae**, v. 54, p. 44-53, 2016.

CAMPOS, A.; ARAÚJO, P.; PINHEIRO, C.; AZEVEDO, J.; OSÓRIO, H.; VASCONCELOS, V. Effects on growth, antioxidant enzyme activity and levels of extracellular proteins in the green alga *Chlorella vulgaris* exposed to crude cyanobacterial extracts and pure microcystin and cylindrospermopsin. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 94, p. 45-53, 2013.

CHEN, J. Q.; GUO, R. X. Inhibition effect of green alga on cyanobacteria by the interspecies interactions. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 839-842, 2014.

CHRISTENSEN, V. G.; KHAN, E. Freshwater neurotoxins and concerns for human, animal, and ecosystem health: A review of anatoxin-a and saxitoxin. **Science of The Total Environment**, p. 139515, 2020.

DALU, T.; WASSERMAN, R. J. Cyanobacteria dynamics in a small tropical reservoir: Understanding spatio-temporal variability and influence of environmental variables. **Science of the total environment**, v. 643, p. 835-841, 2018.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CHIA, A. M.; BEZERRA, H. S.; ARAÚJO, M. K. C.; MOLICA, R. J. R.; DIAS, C. T. S. Allelopathic interactions between microcystin-producing and non-microcystin-producing cyanobacteria and green microalgae: implications for microcystins production. **Journal of applied phycology**, v. 27, n. 1, p. 275-284, 2015.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; CHIA, M. A.; CAMARGO-SANTOS, D.; DIAS, C. T. S. The effect of saxitoxin and non-saxitoxin extracts of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) on cyanobacteria and green microalgae. **Journal of applied phycology**, v. 28, n. 1, p. 241-250, 2016.

FENG, Y.; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource technology**, v. 102, n. 1, p. 101-105, 2011.

- FERGOLA, P.; CERASUOLO, M.; POLLIO, A.; PINTO, G.; DELLAGRACA, M. Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: experiments and mathematical model. **Ecological Modelling**, v. 208, n. 2-4, p. 205-214, 2007.
- FERRÃO-FILHO, A. da S.; DA SILVA, D. A. C. Saxitoxin-producing *Raphidiopsis raciborskii* (cyanobacteria) inhibits swimming and physiological parameters in *Daphnia similis*. **Science of The Total Environment**, v. 706, p. 135751, 2020.
- FUNARI, E.; MANGANELLI, M.; BURATTI, F. M.; TESTAI, E. Cyanobacteria blooms in water: Italian guidelines to assess and manage the risk associated to bathing and recreational activities. **Science of the Total Environment**, v. 598, p. 867-880, 2017.
- FUNARI, E.; MANGANELLI, M.; LUCIANA, S. Impact of climate change on waterborne diseases. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 48, p. 473-487, 2012.
- GHOBRIAL, M. G.; NASSR, H. S.; KAMIL, A. W. Bioactivity effect of two macrophyte extracts on growth performance of two bloom-forming cyanophytes. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 41, n. 1, p. 69-81, 2015.
- GROSS, E. M. Allelopathy of aquatic autotrophs. **Critical reviews in plant sciences**, v. 22, n. 3-4, p. 313-339, 2003.
- HAVENS, K. E.; JI, G.; BEAVER, J. R.; FULTON III, R. S.; TEACHER, C. E. Dynamics of cyanobacteria blooms are linked to the hydrology of shallow Florida lakes and provide insight into possible impacts of climate change. **Hydrobiologia**, v. 829, n. 1, p. 43-59, 2019.
- HILLEBRAND, H. Dürselen, C. D.; Kirschtel, D.; Pollinger, U.; Zohary, T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of phycology**, v. 35, n. 2, p. 403-424, 1999.
- HUANG, I.-S.; ZIMBA, P. V. Cyanobacterial bioactive metabolites—A review of their chemistry and biology. **Harmful algae**, v. 86, p. 139-209, 2019.
- JOCHIMSEN, E. M. et al. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 13, p. 873-878, 1998.
- LEÃO, P. N.; VASCONCELOS, M. T. SD; VASCONCELOS, V. M. Allelopathic activity of cyanobacteria on green microalgae at low cell densities. **European Journal of Phycology**, v. 44, n. 3, p. 347-355, 2009.
- LEGRAND, C.; RENGEFORS, K.; FISTAROL, G. O.; GRANÉLI, E. Allelopathy in phytoplankton-biochemical, ecological and evolutionary aspects. **Phycologia**, v. 42, n. 4, p. 406-419, 2003.
- LI, T., XJU, J., GAO, B., XIANG, W., LI, A.; ZHANG, C. Morphology, growth, biochemical composition and photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris*

(Trebouxiophyceae) under low and high nitrogen supplies. **Algal Research**, v. 16, p. 481-491, 2016.

LI, X.; XU, H.; WU, Q. Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. **Biotechnology and bioengineering**, v. 98, n. 4, p. 764-771, 2007.

LIM, S.L.; CHU, W.-L.; PHANG, S.-M.. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. **Bioresource technology**, v. 101, n. 19, p. 7314-7322, 2010.

LÜRLING, M. The effect of substances from different zooplankton species and fish on the induction of defensive morphology in the green alga *Scenedesmus obliquus*. **Journal of plankton research**, v. 25, n. 8, p. 979-989, 2003.

Ma, Z., Fang, T., Thring, R. W., Li, Y., Yu, H., Zhou, Q.; Zhao, M. Toxic and non-toxic strains of *Microcystis aeruginosa* induce temperature dependent allelopathy toward growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. **Harmful Algae**, v. 48, p. 21-29, 2015.

MENDEZ, L.; SIALVE, B.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; STEYER, J. P.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. *Chlorella vulgaris* vs cyanobacterial biomasses: Comparison in terms of biomass productivity and biogas yield. **Energy Conversion and Management**, v. 92, p. 137-142, 2015.

MOHAMED, Z. A. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management—A review. **Limnologia**, v. 63, p. 122-132, 2017.

O'NEIL, J. M.; DAVIS, T. W., BURFORD, M. A.; GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful algae**, v. 14, p. 313-334, 2012.

PAERL, H. W.; HUISMAN, Jef. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. **Environmental microbiology reports**, v. 1, n. 1, p. 27-37, 2009.

PRATT, R.; FONG, J. Studies on *Chlorella vulgaris* II. Further evidence that *Chlorella* cells form a growth-inhibiting substance. **American Journal of Botany**, p. 431-436, 1940.

SAFI, C. et al. Morphology, composition, production processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**, v. 1, p. 43-112, 1999.

SONG, L.; QIN, J. G., CLARKE, S.; LI Y. Competition and succession between the oily alga *Botryococcus braunii* and two green algae *Chlorella vulgaris* and

*Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of applied phycology**, v. 25, n. 3, p. 847-853, 2013.

TESTAI, E. SCARDALA, S.; VICHI, S.; BURATTI, F. M.; FUNARI, E. Risk to human health associated with the environmental occurrence of cyanobacterial neurotoxic alkaloids anatoxins and saxitoxins. **Critical reviews in toxicology**, v. 46, n. 5, p. 385-419, 2016.

WALLS, J. T.; WYATT, K. H.; DOLL J. C.; RUBENSTEIN, E. M.; ROBER, A. R. Hot and toxic: Temperature regulates microcystin release from cyanobacteria. **Science of the Total Environment**, v. 610, p. 786-795, 2018.

WANG, L.; ZI, J.; XU, R.; HILT, S.; HOU, X.; CHANG, X. Allelopathic effects of *Microcystis aeruginosa* on green algae and a diatom: Evidence from exudates addition and co-culturing. **Harmful algae**, v. 61, p. 56-62, 2017.

ŻAK, A.; MUSIEWICZ, K.; KOSAKOWSKA, A. Allelopathic activity of the Baltic cyanobacteria against microalgae. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 112, p. 4-10, 2012.

ŻAK, A; KOSAKOWSKA, A. The influence of extracellular compounds produced by selected Baltic cyanobacteria, diatoms and dinoflagellates on growth of green algae *Chlorella vulgaris*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 167, p. 113-118, 2015.

ZNAD, H.; AI KETIFE, A. M.; JUDD, S.; AIMOMANI, F; VUTHALURU, H. B. Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*. **Ecological Engineering**, v. 110, p. 1-7, 2018.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente devo agradecer a minha mãe, Suely Melo por todo apoio nessa jornada, todo amor que você me deu durante a vida, toda força. Ao meu padrasto, José Petrônio, que sempre me tratou como um filho. Vocês contribuíram para a formação da pessoa que sou hoje. Ao meu irmão Diego Mateus. A toda minha família que sempre me ajudou no que puderam, contribuindo para minha formação.

Não teria como deixar de lado meus colegas de turma que apesar de muitas brigas e divergências formamos uma ótima turma, sempre unidos nos melhores momentos. Vocês contribuíram para que a jornada do curso se tornasse mais prazerosa. Em especial para meus amigos companheiros do País Lindú que me suportaram diariamente com muitos risos e brincadeiras, Evaldo, Jucy e Kezia. A Izamara e Thereza que também tornaram as tardes de espera de ônibus na UEPB mais agradáveis, sempre jogando conversa fora e rindo de qualquer besteira e palhaçada que a gente fizesse. Mateus, Gabriel, Milena, Julia, Manu, obrigado por tudo... A Tati minha companheira de guerra desde o começo do estágio no laboratório sempre enfrentando tudo, mesmo com as brigas. As minhas amigas Jack e Paula que mesmo com a distância nossa amizade se manteve forte e sei que vou levar por toda a vida. A Dona Mari e Edilma que são a alegria das Três Marias. Várias outras pessoas, que se for colocar aqui vai dar mais página que conteúdo (kkk).

Ao meu orientador José Etham de Lucena Barbosa. O senhor é fonte de inspiração, tanto como pessoa quanto profissional, para um jovem cientista.

A minha coorientadora Vanessa Virginia Barbosa, me inspiro muito na cientista que você é, sou eternamente grato por todo o ensinamento que você transmite.

A Juliana e toda equipe do LEAq. Obrigado por toda colaboração para minha formação acadêmica, todo ensinamento. Antes de entrar no LEAq via todos meus colegas de turma encontrando laboratórios aos quais eles se identificavam, mas eu me sentia perdido, por um momento achei que não encontraria um laboratório que me identificasse até que entrei no LEAq e me apaixonei pelas cianobactérias, ecologia aquática e limnologia. Não posso esquecer de agradecer a Raniele e Dayany que me ajudaram bastante no começo, que me acompanharam de perto. Sou muito grato por todos vocês.

Agradeço a todos os professores do curso de Ciências Biológicas. Todos vocês são fontes de inspiração e resistência. Apesar de todas as dificuldades e cortes na educação, vocês fazem de tudo para dar o melhor ensinamento para os alunos.

Eu sempre tive problemas com fechamentos de ciclos, nunca me acostumei. Sempre falo que gosto de mudar, mas na verdade eu odeio mudanças, mas é algo que tenho que aprender a lidar. Estou fechando mais um ciclo e com fechamento de ciclos há perdas, mas temos que aprender a lidar com elas, pois as perdas abrem espaços novos na nossa vida. Mudar é algo inevitável se você quiser evoluir.